

APPARATUS FOR CARRYING OUT BIOLOGICAL OR CHEMICAL PROCESS ON SAMPLE LIQUID, ITS METHOD AND SET OF APPARATUS FOR PERFORMING NUCLEIC ACID ASSAY

Publication number: JP10150975

Publication date: 1998-06-09

Inventor: LAWRENCE NATHAN P

Applicant: BECTON DICKINSON CO

Classification:


- international: G01N33/53; B01L3/00; C12M1/32; C12Q1/68; G01N1/00; G01N1/10; G01N33/53; B01L3/00; C12M1/26; C12Q1/68; G01N1/00; G01N1/10; (IPC1-7): C12M1/32; C12Q1/68; G01N1/00; G01N1/10; G01N33/50; G01N33/53

- european: B01L3/00C2D4; B01L3/00C2D6

Application number: JP19970278058 19970925

Priority number(s): US19960721386 19960926

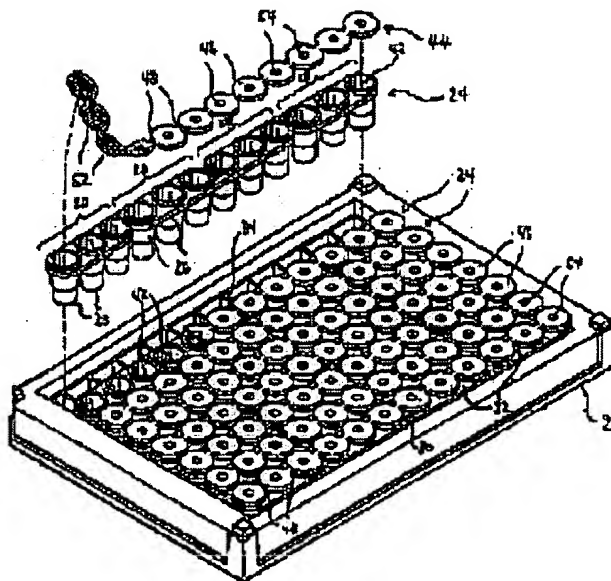
Also published as:

 BR9704709 (A)

[Report a data error here](#)

Abstract of JP10150975

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an apparatus for carrying out a biological or chemical process such as nucleic acid assay or immunoassay while decreasing or eliminating the evaporation loss of a sample liquid. **SOLUTION:** This sample container 26 is provided with a lid 46 having a restricted opening 54 of a size sufficient to fit the tip end of a disposable pipette. Since the pipette tip is held in the opening 54 during the period from the insertion of the pipette tip into the opening to introduce the sample liquid into the sample container 26 to the reaction of the sample with a reagent held in the sample container 26, the evaporation loss of the sample is decreased and the mutual contamination with a sample held in the adjacent sample container 26 is prevented. A combination of different groups of the sample containers for different assaying methods becomes possible by forming these sample containers 26 with different materials exhibiting different functions in biological or chemical process or using the materials as a part of the containers.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-150975

(43) 公開日 平成10年(1998) 6月9日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
C 1 2 M 1/32		C 1 2 M 1/32	
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 1/00	1 0 1	G 0 1 N 1/00	1 0 1 H
			1 0 1 K
	1/10	1/10	N

審査請求 未請求 請求項の数14 F D (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平9-278058

(22) 出願日 平成9年(1997) 9月25日

(31) 優先権主張番号 08/721, 386

(32) 優先日 1996年9月26日

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 59100/332

ベクトン・ディッキンソン・アンド・カンパニー

BECTON DICKINSON AND COMPANY

アメリカ合衆国ニュージャージー州07417
-1880, フランクリン・レイクス, ワン・
ベクトン・ドライブ (番地なし)

(72) 発明者 ネイサン・ビー・ローレンス

アメリカ合衆国メリーランド州21093, テ
ィモニウム, サロー・ドライブ 11960

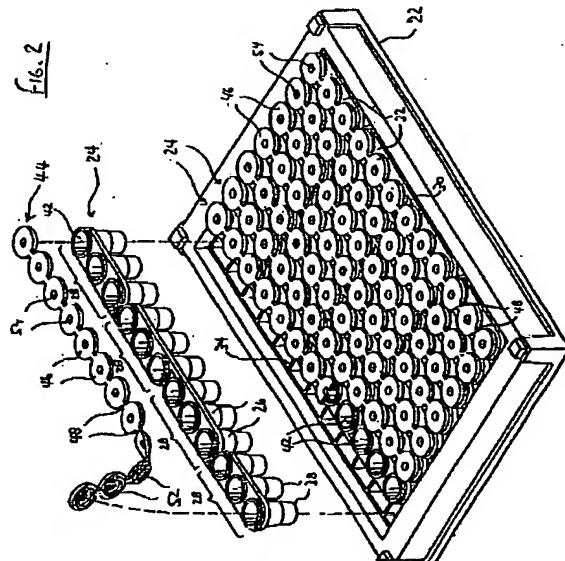
(74) 代理人 弁理士 奥山 尚男 (外3名)

(54) 【発明の名称】 サンプル液に対する生物学的又は化学的プロセスを行う装置、同方法、及び核酸アッセイを行うための装置セット

(57) 【要約】

【課題】 サンプル液の蒸発損失を減らすかなくすることができ核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供する。

【解決手段】 このサンプル容器は、使い捨てピペットチップの先端部が底合されるに十分な寸法の制限開口を有する蓋を備えている。ピペットチップがまず開口に挿入されてサンプル液をサンプル容器内に導入し、サンプルがサンプル容器内に含まれる試薬と反応する間、ピペットチップが該開口内に保持されるので、サンプルの蒸発による損失を減少させ、また、隣接するサンプル容器に含まれるサンプルとの間の互いの汚染を避けることができる。これらのサンプル容器を、生物学的又は化学的プロセスにおける異なった機能を発揮する異なった材料で形成し、又はこれらの材料を含むように構成すると、異なったアッセイ方式に対するサンプル容器の異なったグループの組合せが可能になる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプル液に対する生物学的又は化学的プロセスを行う装置であって、内部およびその内部と連通する上側開口を有する、前記サンプル液を受容するためのサンプル容器と、前記サンプル容器の内部と連通するための前記上側開口よりも小さい制限開口を有して、前記上側開口に嵌合可能な蓋と、前記サンプル容器の内部に付加されて、前記サンプル液と反応する試薬とから成ることを特徴とする装置。

【請求項2】 前記制限開口が、実質的に円形であり、円錐状の使い捨てピペットチップの少なくとも先端部が嵌入されるに十分な直径を有することを特徴とする請求項1に記載の装置。

【請求項3】 前記制限開口の直径が、前記の円錐形状の使い捨てピペットチップの、長さ方向の一点における直径と実質的に等しいことを特徴とする請求項2に記載の装置。

【請求項4】 前記試薬が、前記サンプル容器の内壁に付着させられた、乾燥された核酸汚染除去試薬、乾燥された核酸増幅試薬、及び、又は固定された核酸検出試薬から成ることを特徴とする請求項1に記載の装置。

【請求項5】 前記サンプル容器が、実質的に同一の、複数の、互いに接続されたサンプル容器の1つであることを特徴とする請求項1に記載の装置。

【請求項6】 前記蓋が、実質的に同一の、複数の、互いに接続された蓋の1つであることを特徴とする請求項5に記載の装置。

【請求項7】 前記複数のサンプル容器が、実質的に線状の第1細長条として互いに接続され、前記複数の蓋が、実質的に線状の第2細長条として互いに接続されていることを特徴とする請求項6に記載の装置。

【請求項8】 サンプル液に対して生物学的又は化学的プロセスを行う方法であって、前記サンプル液をピペットチップに引き込む段階と、前記ピペットチップの先端部をサンプル容器内にそのサンプル容器の制限開口を介して導入する段階と、前記サンプル液を前記ピペットチップから前記サンプル容器に移す段階と、前記ピペットチップの先端部を前記制限開口内に保持しながら、前記サンプル容器内の前記サンプル液に対して反応を生じさせる段階とによって構成されることを特徴とする方法。

【請求項9】 前記ピペットチップの外面が、前記ピペットチップが前記反応中に前記制限開口を密閉するように、前記制限開口の縁に対して十分に近接させられることを特徴とする請求項8に記載の方法。

【請求項10】 前記ピペットチップの先端部が前記サンプル容器の底に近接させられ、前記方法が、前記反応が完了した後に前記サンプル液を前記ピペットチップに

引き戻す段階を更に有することを特徴とする請求項9に記載の方法。

【請求項11】 前記サンプル容器内の前記サンプル液に対して反応を生じさせる前記段階が、前記サンプル液を前記サンプル容器の内部にある試薬と接触させる段階を有することを特徴とする請求項8に記載の方法。

【請求項12】 前記制限開口が、前記ピペットチップの先端部を前記サンプル容器内に導入する前記段階において、前記ピペットチップを前記サンプル容器の、貫通可能な部分に貫通させることによって形成されることを特徴とする請求項8に記載の方法。

【請求項13】 乾燥された核酸汚染除去試薬を内蔵する第1の複数のサンプル容器と、

乾燥された核酸増幅試薬を内蔵する第2の複数のサンプル容器と、

固定された核酸検出試薬を内蔵する第3の複数のサンプル容器と、

少なくとも前記第1の複数のサンプル容器の1つ、少なくとも前記第2の複数のサンプル容器の1つ、及び、少なくとも前記第3の複数のサンプル容器の1つを保持するホルダーとを備えたことを特徴とする、生物学的サンプル液に対して核酸アッセイを行うための装置セット。

【請求項14】 前記第1、第2および第3の複数のサンプル容器の各サンプル容器が、実質的に同一の互いに接続された一連のサンプル容器の1つから成り、前記ホルダーが、前記第1、第2および第3の複数のサンプル容器のそれぞれにおけるすべての接続されたサンプル容器を保持することを特徴とする請求項13に記載の装置セット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、サンプル液に対して〔核酸アッセイ(nucleic acid assay)又は免疫検定のような〕生物学的又は化学的プロセスを行うためのサンプル容器の改良に関する。さらに詳細には、本発明は、ロボットピペット装置と関連して用いられるときにサンプルの蒸発を減少させかつ異なったサンプル間の互いの汚染を避けることができる蓋付きサンプル容器であって、生物学的又は化学的プロセスの、異なった態様に利用できるように異なった材料から形成され又は異なった材料が塗布されてプレート状のセットに組み込まれて用いられるようなサンプル容器に関する。本発明の関連内容が、1995年6月6日にHugh V. Cottingham等によって提出された「核酸を増幅する方法と装置」と題する米国同時係属出願第08/470,326号、1995年3月24日にMichael L. Lamos等によって提出された「ピペットチップ」と題する米国同時係属出願第08/410,245号、1995年3月24日にAllen S. Reichler等によって提出された「核酸を主とする診断アッセイのためのシステム」と題する米国同時係属出願第

08/409, 821号、1995年3月24日にAllen S. Reichler 等によって提出された「核酸を増幅する方法と装置」と題する米国同時係属出願第08/409, 405号、および1994年3月14日にHugh V. Cottingham等によって提出された「核酸を増幅する方法と装置」と題する米国同時係属出願第08/213, 304号に開示されかつクレームされている。なお、前記出願の全ての開示内容は引用により本明細書の内容の一部とされる。

【0002】

【従来の技術】生物学的プロセスは、臨床診断アッセイにおいて頻繁に利用されている。しかし、このプロセスの各工程は検査室の異なった場所及び、又は異なった容器内で行われることが多く、生物学的サンプルと試薬を移送する必要がある、他の臨床用サンプルとの間で汚染を生じるおそれがある。

【0003】プロセスが、核酸(対象核酸)の単一鎖を百万個の複製(アンプリコン)に増殖させることが可能な、DNA鎖置換増幅(SDA)、好熱性DNA鎖置換増幅(tSDA)又はポリメラーゼ連鎖反応(PCR)のような核酸増幅反応を含む場合、上記の汚染は特に問題となる。臨床診断検査室における膨大な数の実験において、核酸増幅反応がそれ以前の増幅反応による増幅生成物(アンプリコン)によって容易に汚染される可能性は大きい。次いで、このような汚染性アンプリコンは研究室に移送された新規のサンプルを汚染し、汚染されたサンプルに基づく疑似の検出値(例えば、誤った診断)をもたらす。アンプリコンの汚染の問題に対処するため、多くの汚染除去技術が開発されている。これらの汚染除去技術は概して、汚染除去を効果的に行うために、増幅工程の前にプロセスの汚染除去工程を行って、それによって、汚染性アンプリコンが増幅工程中対象となる核酸として認識される可能性を大きく減少させている。

【0004】汚染除去試薬および増幅試薬は、互いに相溶性がない場合が多く、それら自身の反応条件を必要とする。汚染除去試薬が増幅試薬と結合されると、それらは互いに不活性になる場合もある。

【0005】1994年3月14日にHugh V. Cottingham等によって提出された「核酸を増幅する方法と装置」と題する(本出願人に譲渡された)米国同時係属出願第08/213, 304号において、汚染除去と増幅を単一モジュールの各密閉区域内で行うことによってこれらの問題を減らすことができると記載されている。ここに開示されたモジュールは概略的に生物学的サンプル液が出し入れされるサンプル容器と、サンプル容器と流体的に連通する少なくとも1つの反応室と、反応室およびサンプル容器と空圧的に連通する空圧室と、装置を空気吸込・分配手段と接続する空圧室に設けられた空気口を備えている。空気吸込・分配手段の作動によって、生物学的サンプル液は、サンプル容器と反応室間

を制御されて流通することが可能になる。好適な実施形態において、そのモジュールは、サンプル容器と、両端の空気口、その間に反応室が配置された、略細長状に形成されている。汚染除去反応および増幅反応に必要な試薬は、反応室内の別々の離れた場所に設けられ、生物学的サンプル液が空気吸込・分配手段の作動によってこれらの場所の間で移動される。

【0006】上記の米国特許出願第08/213, 304号に記載されたモジュールは、特に、必要な液体の移送とサンプルの移動がロボットピペットシステムによって自動的になされる自動化処理装置に対して好適に用いられる。ロボットピペットシステムとしては、増幅を行うためにモジュールの空気口において空気の吸込・分配を可能とする専用の空圧式ピペットチップの設置が必要ではあるが、従来式のものを用いることができる。このような自動化処理装置の一例が、1995年3月24日にAllen S. Reichler 等によって提出された「核酸を主とする診断アッセイのためのシステム」と題する(本出願人に譲渡された)米国同時係属出願第08/409, 821号に開示されている。

【0007】上記の米国特許出願第08/213, 304号に記載されたモジュールにおいて、微小溝の形態を有する液体流量制御手段は、サンプル容器と反応室間、および1つ以上の反応室が設けられている場合は、その反応室間における生物学的サンプル液の流量を制御するために用いられる。望ましい液体流量の制御機能に加えて、微小溝は汚染除去工程および増幅工程中に生じるモジュールからの生物学的サンプル液の蒸発を減少させる働きがある。比較的なわずかな量の生物学的サンプル液(典型的には、約55 μ L)が用いられるとき、プロセスのある段階における比較的高い温度(80℃以下)および汚染除去反応と増幅反応を完了させるのに必要な時間(それぞれ、略1時間、略2時間)によって、サンプルが蒸発するという大きな問題が生じる。極端な場合、蒸発によって、汚染除去工程および増幅工程の後、残留している生物学的サンプル液の量が回収・アッセイされるには不十分となることがある。しかし、適切な寸法の微小溝(microchannels)を用いることによって、蒸発損失を抑制することができる。

【0008】このような利点にもかかわらず、微小溝は、正確な寸法公差を必要とするので製造が困難である。米国同時係属出願第08/213, 304号に開示されているように、連続する反応室間の流量制御は、生物学的サンプル液をモジュール内に単一の未分割量(一回投与分)として流通させることによって微小溝を用いなくても行うことができる。しかし、微小溝は、サンプル容器と空気口を介する蒸発損失を減少させるために、装置の両端に依然として設けられている。

【0009】上記のモジュールの多くの改良が、1995年3月24日にAllen S. Reichler 等によって提出さ

れた「核酸増幅の方法と装置」と題する（本出願人に譲渡された）同時係属米国特許出願第08/409,805号に記載されている。これらの改良の1つとして、サンプル口を介する生物学的サンプル液の蒸発を減少させるために設けられたモジュールのサンプル受容区域と流体的に連通するサンプルタワー、およびモジュールの両端の空気口を介する生物学的サンプル液の蒸発を減少させるために設けられた空気圧タワーを用いる改良が挙げられる。サンプルタワーおよび空気圧タワーは、モジュール内での汚染除去および増幅中に生じる生物学的サンプル液の蒸気を捕捉し、モジュールからの蒸発損失率を減少させる温度勾配を生成する働きがある。また、これらのタワーは、モジュールのいずれかの端部において大気流から開口を遮蔽し、サンプル液の蒸気を凝縮された小滴としてモジュールに還元させる凝縮面を与える働きもある。このようなサンプルタワーおよび空気圧タワーによって、蒸発損失を制御するための微小溝を装置内に設ける必要性を減らすことができる。

【0010】しかし、これらの改良にもかかわらず、米国同時係属出願第08/409,805号に記載のモジュールは多くの欠点と制限事項を有している。例えば、サンプルタワーおよび空気圧タワーは生物学的サンプル液の蒸発損失を減少させるのに有効ではあるが、汚染除去反応と増幅反応が生じている間、サンプル口と空気口は開いているので、それらがサンプル液の蒸気の逸出路になり、従って、ある程度の損失が生じる。また、この問題と関連して、自動化ピペット装置の作動中に、モジュールからサンプル液のエアロゾルが放散するという問題もある。米国同時係属出願第08/409,821号に開示されている形式の自動化処理装置において、多くのモジュールが互いに近接して処理されると、エアロゾルが形成されることによって、異なるサンプル同士間に汚染が生じる可能性がある。上記の米国特許出願第08/409,805号に記載のモジュールの他の欠点は、（特別仕様の構成を有する）そのモジュールの製造が困難であり、また、モジュールの反応区域内で望ましい一回分のサンプル液を移動させるために、そのモジュールの寸法、幾何学的条件および材料を注意深く選択しなければならないという点にある。さらに、モジュール内におけるサンプルの移動を制御するための空気吸込・分配手段を用いる点も、そのモジュールが用いられる自動化処理装置に付加的な要件を強いることになるので、好ましくない。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、サンプル液の蒸発損失による問題を減らすか又はなくすることができる、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0012】また、本発明の他の目的は、特にサンプル

が自動化処理装置内で互いに近接して同時に処理される場合に、異なったサンプル液間の互いの汚染の可能性を減らすか又はなくすることができる、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0013】さらに、本発明の他の目的は、簡単にかつ安価に製造され、幾何学的条件、寸法又は材料選定に関して制約されない、生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0014】また、本発明の他の目的は、既存の生物学的および化学的サンプル容器と類似の構成を有し、従って、既存の方法と類似の方法で製造できる、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0015】さらに、本発明の他の目的は、従来のロボットピペットシステムと互換性があり、サンプル液を1つの反応位置から他の反応位置に移動させるために専用の空圧式吸入および投入装置を必要としない、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0016】また、本発明の他の目的は、ユーザにアッセイ構成又はセット化において種々のオプションを与えることができるように異なった構成で組み立てられる、異なった機能の異なった容器を有する、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うための装置を提供することにある。

【0017】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、前記の欠点および制限事項は、使い捨てピペットチップの先端部が嵌合されるに十分な寸法の制限開口(restricted aperture)を有する蓋付きサンプル容器内で、核酸アッセイ又は免疫検定のような生物学的又は化学的プロセスを行うことによって、解決される。具体的には、ピペットチップがまず開口に挿入されてサンプル液をサンプル容器内に導入し、サンプルがサンプル容器内に含まれる試薬と反応する間、ピペットチップはその開口内に保持される。このように、反応が生じている間、ピペットチップは効果的にサンプル容器を密閉しているため、サンプルの蒸発による損失を減少させ、また、隣接するサンプル容器に含まれるサンプルとの間の互いの汚染を避けることができる。

【0018】本発明の1つの態様によれば、サンプル液に対する生物学的又は化学的プロセスを行う装置が提供される。この装置は、内部およびその内部と連通する上側開口を有する、サンプル液を受容するためのサンプル容器を備えている。蓋はサンプル容器の上側開口に嵌合可能であり、また、蓋はサンプル容器の内部と連通するための上側開口よりも小さい制限開口を有している。さらに、サンプル液と反応する試薬がサンプル容器の内部に付加される。本発明の好適な実施態様において、試薬

は、核酸アッセイに好適に用いられる試薬の1つであり、例えば、乾燥された核酸汚染除去試薬、乾燥された核酸増幅試薬、又は固定された(immobilized)核酸検出試薬の1つであればよい。また、他の好適な実施態様において、試薬は、免疫検定に好適に用いられる試薬の1つであり、又は他の所望の生物学的又は化学的プロセスに用いられる試薬の1つであればよい。

【0019】本発明の他の態様によれば、サンプル液に対して生物学的又は化学的プロセスを行う方法が提供される。この方法は、サンプル液をピペットチップに引き込む段階と、ピペットチップの先端部をサンプル容器内にそのサンプル容器の制限開口を介して導入する段階と、サンプル液をピペットチップからサンプル容器に移す段階と、ピペットチップの先端部を制限開口内に保持しながら、サンプル容器内のサンプル液に対して反応を生じさせる段階とによって構成される。好ましくは、ピペットチップの外面は、ピペットチップが反応中に制限開口を密閉するように、制限開口の縁に対して十分に近接されるとよい。また、反応が完了した後にサンプル液がピペットチップに引き戻されるように、ピペットチップの先端部はサンプル容器の底に近接されるのが好ましい。

【0020】さらに、本発明の他の態様によれば、生物学的サンプル液に対して核酸アッセイを行うための装置セットが提供される。この装置セットは、乾燥された核酸汚染除去試薬を含む第1の複数のサンプル容器と、乾燥された核酸増幅試薬を含む第2の複数のサンプル容器と、固定された核酸検出試薬を含む第3の複数のサンプル容器を備えている。この装置はさらに、少なくとも第1の複数のサンプル容器の1つと、少なくとも第2の複数のサンプル容器の1つと、少なくとも第3の複数のサンプル容器の1つとを保持するホルダーを備えている。好ましくは、第1の複数のサンプル容器の内の異なったサンプル容器は異なった乾燥核酸汚染除去試薬を含み、第2の複数のサンプル容器の内の異なったサンプル容器は異なった乾燥核酸増幅試薬を含み、第3の複数のサンプル容器の内の異なったサンプル容器は異なった固定された核酸検出試薬を含むとよい。この構成によって、ユーザは特定の核酸アッセイに必要な特定のサンプル容器を選択し、選択されたサンプル容器をホルダーを用いて必要な順序に組み立て、そのホルダーを自動化処理装置に搭載して所定のアッセイを行うことができる。好適な実施態様によれば、第1、第2および第3の複数のサンプル容器の各サンプル容器は、実質的に同一の互いに接続された一連のサンプル容器の1つからなり、ホルダーは第1、第2および第3の複数のサンプル容器のそれぞれにおけるすべての接続されたサンプル容器を保持するように構成されるとよい。この構成によって、異なった生物学的サンプル液に対して多くの核酸アッセイを同時に行うことが可能になる。

【0021】本発明の種々の目的、利点および新規の特徴は、添付の図面に基づく以下の詳細な説明によって、さらに容易に理解されるだろう。

【0022】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を図面に基づいて説明する、なお、図面において、同一の参照番号は同様の部品および構成要素を示す。

【0023】本発明の好適な実施形態による多重サンプル容器組立体20が図1ないし図3に例示されている。この組立体は、略長方形のホルダー(又はトレイ)22と、互いに連結されたサンプル容器26から成る、複数の細長条24を備えている。好適な実施形態において、各細長条24は、12個のサンプル容器26を備え、それらは、各々が3個のサンプル容器26からなる4つのグループ28に分けられている。サンプル容器の細長条およびグループについて、勿論、他の構成も可能である。図示されるように、各グループ28は、サンプル容器を有する各細長条24の交互の側面に設けられた破断可能なタブ30によって、互いに接続されている。ユーザは、1つ以上のタブ30を破断することによって、各細長条24におけるサンプル容器26の数を(3の倍数分だけ)減らして、実施されるアッセイの要求に適合させることができる。各グループ28において、サンプル容器26は上部水平フランジ32と各垂直ウエブ(図1ないし図3においては見えない)によって互いに接続されている。垂直ウエブは、フランジ32の真下で互いに隣接する容器間に形成されている。サンプル容器26は、平らな底面を有し、上方が開放された円筒状に形成されている。サンプル容器26の各細長条24は、好ましくは、適当なプラスチック材料、例えば、ポリスチレンから、一体に成形されるとよい。ただし、必要なら、他の材料を用いてもよい。前述したように、サンプル容器26の細長条24の構成は、既出の米国同時継続出願番号第08/409,821号における自動化された核酸アッセイの検出工程に用いられる容器の構成と基本的に同じである。

【0024】ホルダー22には、サンプル容器26の複数の細長条24を受容するための長方形のグリッドすなわち格子34が設けられている。格子34における長方形の各開口36は、隣接する細長条24の、2つの隣接するサンプル容器26の円筒状の底部38を自在に摩擦させて受容・保持するような寸法を有している。これらの格子における長方形の開口は、ホルダー22の長さ方向に延びている下に沈んだ壁39によって二つに分割されている。図3に示されるように、これらの壁39には、ある程度の弾性が得られるように、45°傾斜した間隙40がホルダー22の長さ方向において交互に逆向きになるように設けられている。この間隙40によって、各壁39は互いに独立して逆方向に屈曲可能な2つの部分に分割される。従って、これらの壁39は、ホル

ダー22内において、サンプル容器26の各細長条24に、その細長条24に対して隣接する細長条24が存在しても存在しなくても、独立した把持力を与えることができる。この好適な実施形態において、ホルダー22は、サンプル容器26の8つの細長条24を受容している。従って、ホルダー22が完全に細長条24で満たされている場合には、ホルダー22は総計96個のサンプル容器26を搭載することになる。この、96個の容器を搭載する方式は、標準的な、96個の容器からなるマイクロタイタープレート(microtiter plate)と対応するので好ましいが、必要に応じて、他の構成が用いられてもよい。このホルダー22は、好ましくは、適当なプラスチック材料、例えば、ポリスチレンから一体に成形又は機械加工して作るとよい。ただし、特定の用途の必要条件に合わせて、ホルダー22を他の材料から形成することもできる。具体的には、もしサンプル容器内で行われるプロセスが熱を必要とするなら、ホルダー22は、デュボン社から市販されているG. E. ULTEM (ポリエチレンイミド、商標名) 又はDELRI (商標名) のような耐熱性プラスチック等から形成されるとよい。あるいは、熱をホルダーを介してサンプル容器に伝達させる熱板(heating platens) を、ホルダーの加熱面積を制限するように設計することによって、耐熱性プラスチック以外の適当なプラスチック材料を用いることもできる。

【0025】単に例示であって限定はされないが、ホルダー22は、略5.0インチの長さ、略3.3インチの幅、および略0.5インチの高さを有するとよい。格子の開口36は、略0.3インチ×0.7インチの寸法を有する長方形であり、一辺約0.3インチの寸法を有する2つの正方形に、沈んだ壁39によって分割される。サンプル容器26の各細長条24は、略0.36インチの幅(フランジ32の外縁間の距離)と略0.5インチの高さを有する。各サンプル容器26は、上側から下側に向かって約2°の勾配で僅かに内側に傾斜した略円筒形状を有する。サンプル容器26の上側開口42の直径は略0.26インチであり、サンプル容器26の内部容積は略4.25マイクロリットル(μ L)である。

【0026】本発明の重要な1つの態様によれば、サンプル容器が核酸アッセイ、免疫検定、又は他の生物学的あるいは化学的プロセスにおいて用いられるときにサンプルの蒸発損失やサンプル同士の混入汚染を減少させるために、サンプル容器26を覆う手段が設けられる。好適な実施形態において、この手段は、各サンプル容器26に対応する柔軟性プラスチック又はゴム製の蓋46の細長条44からなる。隣接する各蓋46間の中心間距離は、各サンプル容器26の上側開口42間の中心間距離に等しい。各蓋46は円筒形状又は円板形状を有し、破断可能なタブ48によって隣接する蓋に接続されている。従って、蓋46の細長条44は、サンプル容器26

の細長条24の場合と同様に、ユーザによって破断、すなわち、二次的に分割されることが可能である。各蓋46の下側に、円筒形状の弾性ストッパ部52が一体的に形成されている。このストッパ部52は、蓋46がサンプル容器26に被せられたときに、ストッパ部52が、対応するサンプル容器26の上側開口42内に密着に嵌合されるような寸法を有している。サンプル容器組立体20が通常的に用いられる間、図1に例示されるように、ホルダー22内のサンプル容器26のすべての上側開口内に蓋46が嵌合されている。

【0027】図1および図2から明らかなように、各蓋46には、垂直軸心を有する円孔すなわち開口54が、蓋の中心又はその近傍に予め形成されている。蓋46が、対応するサンプル容器26に被せられたとき、開口54はサンプル容器26内に連通して、サンプル液が後述する手動又は自動ピペット装置によってサンプル容器26内に導入(およびそこから導出)されるアクセス口を構成する。好適な実施形態において、開口54の直径は、標準的な(円錐形状の)使い捨てピペットチップの先端部から上方に略0.47インチ離間された点の直径に対応して、略0.09インチに設定されている。

【0028】図4は、核酸アッセイにおける各サンプル容器26の使用方法を例示する、図1の線4-4に沿った断面図である。8つのサンプル容器26 Aないし27 Hが図4に示されている。これらの8つのサンプル容器は、それぞれ、図1および図2における異なった、サンプル容器の細長条24の一部である。典型的な一つの用途例において、図1および図2における、サンプル容器26の細長条24は、それぞれ、核酸アッセイの異なった工程を行うのに用いられ、手動又は自動ピペット装置はサンプル液を所定の1つの細長条の各容器から隣接する細長条の、対応する容器に移すのに用いられる。このように、図1および図2の96個の容器の配置によれば、12種のサンプル(1つのサンプルは所定の1つの細長条24の1つの容器に位置する)に対して、核酸アッセイを同時に行うことができ、各サンプルに対して、アッセイの各工程が(ホルダー22に収容されている細長条24の数に対応する)8つの異なったサンプル容器内で行われる。図4はまた、核酸アッセイが行われているときに、自動処理装置内で作動される種々の熱板と光学的検出器を示している。これらの構成要素の操作については、後述の説明で明らかになるであろう。

【0029】さらに図4を参照して、第1サンプル容器26 Aは、核酸アッセイにおいて、「ヒートスパイク」容器("heat spike well")として用いられるとよい。従って、ホルダー22が内蔵されている自動処理装置には、サンプル容器26 Aの下方に位置する熱板56が設けられる。熱板56は、初期ヒートスパイク工程中にサンプル容器26 A内のサンプル液の温度を略80℃に上昇させるように作用させられる。ある種のプラスチック

材料（例えば、ポリスチレン）はこの温度において軟化又は溶融させられるので、サンプル容器26Aは、必要に応じて、セラミック材料又は他の耐熱材料によって形成されるとよい。なお、このことは、図4に示される、容器26Aを一部として有する細長条24における他のサンプル容器の全てに当て嵌まる。

【0030】図4における第2サンプル容器26Bは、例えば、核酸アッセイにおいて汚染除去容器として用いられる。汚染除去工程の目的は、対象とする望ましい核酸配列のみが増幅されるように、増幅工程が行われる前にサンプル液中の汚染されているアンプリコン（増幅生成物）を不活性化させることにある。好ましくは、汚染除去反応に必要な汚染除去用試薬が、サンプル容器26Bの底に付着させられた乾燥点滴(dried spot)58の形態で設けられるとよい。マイクロタイター容器に点滴を形成するための従来機器を用いて、製造プロセスにおいて、（ホルダー中のサンプル容器の全細長条における場合を含み）複数のサンプル容器の細長条24に点滴58が形成される。その点滴58は、制御された温度および湿度の条件下において対流式乾燥オープンで乾燥されるか、又は凍結乾燥される。なお、汚染除去用試薬58を乾燥する好適な方法として、引用によりこの明細書の一部を成す、Quadrant Bioresources, Ltd. に所有された米国特許第4,891,319号およびPCT特許出願公開明細書第WO87/00196号における、トレハロースの存在下で試薬を乾燥させる技術が用いられる。簡単に述べると、その好適な乾燥技術は、乾燥中に生物学的材料が変成されるのを防ぐことを目的として、その生物学的材料を含む水性系(aqueous system)に、水性系の全重量に対して0.05ないし20重量%の範囲のトレハロースを存在させて、凍結点以上の温度を与える工程によって構成されている。トレハロースは、 α -D-グルコピラノシル- α -D-グルコピラノシドとして知られている、天然に存在する非還元性のジサッカライドである。トレハロースの存在下における乾燥は、好ましくは大気圧での、簡単な空気乾燥でよい。このようなトレハロースを用いるすぐれた乾燥技術は、本発明における汚染除去用試薬58の乾燥に用いられるとよい。汚染除去試薬は、任意の適当な形態、例えば、（単なる例示にすぎず、これらに限定するものではないが）、乾燥フィルム、凍結ペレットのような固形物、又は試薬の含浸された紙の形態でも、用いられる。

【0031】汚染除去工程は、約41℃又はそれ以上の温度で行われるので、自動処理装置において、熱板62が汚染除去容器26Bの下方に位置して設けられる。この熱板62は熱板56と分離されているのが好ましい。なぜなら、後者の熱板は、より高い温度で働くからである。熱板56と62とを分離することによって、汚染除去容器26Bはヒートスパイク容器26Aに付加される、より高い温度環境から隔離され、従って、容器26

Bは耐熱材料によって形成する必要がない。

【0032】図4に示される第3サンプル容器26Cは、例えば、核酸アッセイ中に増幅容器として用いられる。この目的のために、図示されるように、適当な核酸増幅試薬を含む乾燥点滴60がサンプル容器26Cの底に付着させられている。汚染除去試薬58の乾燥に用いられたトレハロース技術によって、この増幅試薬60を乾燥するのが好ましい。汚染除去試薬の場合におけるように、増幅試薬60は、任意の適当な形態、例えば、（単なる例示にすぎないが）、乾燥フィルム、凍結ペレットのような固形物、又は試薬の含浸された紙の形態で、用いられる。本発明の好適な実施形態において用いられる増幅方法は、好熱性鎖置換増幅法を含む鎖置換増幅法である。ただし、他の増幅方法として、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)、リガーゼ鎖反応法(LCR)、転写式増幅法、自己持続配列レプリカ法(self-sustained sequence replication, 3SR)、Q β レプリカーゼ法(Q β replicase system)、核酸配列系増幅法(NASBA)、修復鎖反応法(repair chain reaction, RCR)、およびブーメランDNA増幅法(BDA)を用いることもできる。

【0033】例えば、SDAの増幅工程中に、サンプル液は、約41℃の温度で略2時間保温される。このサンプル液を所定の温度に加熱するために、図示されるように、熱板64が自動処理装置内において増幅容器26Cの下方に位置して設けられる。保温期間の終りに、サンプルの温度を略5分間、約80℃に上昇させるように熱板64を作用させることによって、増幅反応が停止される。この増幅容器26Cは、このような温度に耐える必要があるため、セラミック又は他の耐熱材料によって形成されるとよい。熱板64は、前述した熱板の場合におけるように、隣接する熱板に関連するサンプル容器が高温度に耐える必要がないように、その隣接する熱板から物理的に分離させるのが好ましい。

【0034】さらに図4を参照して、次のサンプル容器26D、26Eおよび26Fは、典型的には、核酸アッセイの最後にDNA目標配列検出工程を行うのに用いられる。ここで用いられる検出容器の数は、行われるアッセイの種類および用いられる検出方法に依存する。本例では、増幅されたサンプル中の結核菌のDNA配列を検出するためにアッセイが行われると仮定する。この場合、サンプル容器26D、26Eおよび26F内で3つの別々の検出反応がそれぞれ行われるのが好ましい。サンプル容器26D内で行われる第1の検出反応は、核酸増幅がサンプル液内で生じたかどうかを決定する内部増幅制御反応である。サンプル容器26E内で行われる第2の検出反応は、抗酸菌のDNA配列が増幅されたかどうかを検出するための「属（種の上位概念）」を判別する反応である。サンプル容器26F内で行われる第3の検出反応は、増幅されたサンプル内の結核菌のDNA配

列を検出する「種」を判別する反応である。典型的には、増幅されたサンプルは増幅容器26Cから取り出されて自動ピペット装置によって3つの等しい部分（アリコート）に分割され、各アリコートは検出容器26D、26Eおよび26Fの1つにそれぞれ投入される。サンプル容器26D、26Eおよび26Fのそれぞれが十分な容量の液体で満たされるように、増幅容器26Cから取り出された増幅サンプルは、検出容器26D、26Eおよび26Fに分割されてから、〔生理的食塩水(saline solution) のような〕不活性液と混合されるとよい。

【0035】検出容器26D、26Eおよび26Fは、数種類の異なった対象DNA配列に対して包括的であるか又は1つの特殊な種類のDNA配列に対して特定のであるかのいずれかである。包括的な容器を形成するには、検出容器26D、26Eおよび26Fの内壁は製作中に、乾燥された捕捉試薬〔例えば、ビオチン化BSA/ストレプトアビジン(biotinylated BSA/Streptavidin)〕で被覆され、特定の捕捉プローブおよび検出プローブが、アッセイ中に液状態で手動又は自動ピペット装置を用いてサンプル容器内に導入される。もし、特定の容器が必要なら、捕捉プローブおよび検出プローブは、製作プロセス中にサンプル容器の内壁に設けられた皮膜の中に含まれる。

【0036】核酸アッセイの検出工程中、サンプル容器26D、26Eおよび26F内のサンプル液は、捕捉プローブと検出プローブが付加された後、約35℃の温度で略1時間保温される。サンプル液を所定の温度に加熱するために、熱板66が自動処理装置内においてサンプル容器26D、26Eおよび26Fの下方に位置するように設けられる。サンプル容器26D、26Eおよび26Fは同じ温度に加熱されるので共用の熱板66を用いることが可能になるが、もし、所定の1つのアッセイにおいてそれらのサンプル容器が同じ温度に加熱されないなら、互いに分離された熱板を用いてもよい。検出プロセスの最終工程として、典型的には、液状の化学発光試薬が検出容器26D、26Eおよび26Fに添加される。この工程はまた、定温工程（37℃で略30分）を含み、化学発光試薬が検出容器26D、26Eおよび26Fの内壁と結合させられた、ハイブリッド形成された増幅材料と反応してそれらの微小容器内で発光する。対象となる核酸配列が検出されたことを示すこの発光は、ホルダー22を自動化処理装置から取り出して従来の光量計(luminometer)内に置くことによって感知される。又は、検出容器26D、26Eおよび26Fにおける発光の検出は、図4に示されるように、自動化処理装置内において行ってもよい。そして、この目的のために、検出容器26D、26Eおよび26Fは、各容器内の発光が外部から検出できるように、透明なプラスチック材料で形成される（蓋46も、必要条件ではないが、透明なプラスチック材料で形成することができる）。光ファイ

バー68、70および72が、熱板66に形成された孔を通して、サンプル容器26D、26Eおよび26Fの底部に面している。光ファイバー68、70および72の反対側の端部は、検出容器26D、26Eおよび26Fの各々の発光の存在を検出してユーザに適当な表示又は読出しデータを与える光電検出システム74に接続されている。

【0037】最後の2つのサンプル容器26Gおよび26Hは、例示された実施例においては使用されないが、付加的な液体移送工程及び、又は付加的な試薬を必要とする他の形式の核酸アッセイ又は免疫検定に適応させるために設けられている。熱板76および78は、サンプル容器26Gおよび26H内で行われる反応がサンプル液の、高められた温度の保持を必要とする場合に、これらのサンプル容器のために設けられるとよい。その他の場合、熱板76および78は省略することができる。

【0038】図5は、図4におけるホルダー22の下方の熱板の好適な配置を例示する上面図である。この好適な配置において、熱板56、62、64、66、76、および78は、それぞれ、略長方形であり、その長さはサンプル容器26の細長条25の長さに略等しく、その幅はサンプル容器26の底部38の直径に略等しい（なお、熱板66の場合、サンプル容器26の、複数の細長条24の底部38を横切るに十分な幅を有している）。他の熱板構成も可能である。例えば、サンプル容器ごとに円形の熱板を設けてもよい。また、異なる温度に加熱可能でかつサンプル容器の、異なる細長条の下方に配置可能な可動性の熱板を設けてもよい。光ファイバー68、70および72は熱板66の開口を貫通するが、これらの開口は1つの細長条24に沿うサンプル容器26間の中心間距離と等しい中心間距離を有している。各検出容器用細長条24における12個のサンプル容器26の全てについて発光を検出するために、熱板66は12本の光ファイバー68、12本の光ファイバー70、および12本の光ファイバー72を備えている。

【0039】図6ないし図11は、本発明による改良サンプル容器構成を用いて、核酸アッセイを行う方法を例示する逐次工程図である。これらの図において、ホルダー12と各サンプル容器26は、図4に基づいてすでに説明された形式の自動化処理装置に入れられるものとする。前述の熱板および光学的検出システムに加えて、自動化処理装置は、例えば、プログラムに基づき液を投与および移送することが可能なロボットピペットシステムを備えている。好適なロボットピペットシステムとして、TECAN AG（スイス、Hombrechtikon 在）によって製造されているTECANモデルRSP9682自動化ピペット装置が挙げられる。該ピペットシステムのロボットアームは、使い捨てプラスチックピペットチップ80を保持するエジェクター組立体を備えている。使い捨てピペットチップ80（その中間部は図6ないし

図11において破断されている)は、近位端82の外径約0.28インチから先端部84の外径約0.03インチに傾斜した略円錐形状を有している。好ましくは、ビベットチップ80は、300マイクロリットル(μL)の最大容積を有するように高圧ポリプロピレン(*autoclavable polypropylene*)によって形成され、近位端82の近傍にフィルタ材の内部プラグ(すなわち挿入口)86が設けられるとよい。フィルタ材は、液がビベットチップ80の先端部84の開口内に吸い込まれるように(およびそこから投与されるように)空気を流入させるが、液を通過させない機能を有している。このフィルタ材は、Michael L. Lamos等によって1995年3月24日出願された「ビベットチップ」と題する米国同時係属出願第08/410,245号に詳細に記載されている。

【0040】図6において、アッセイ対象の生物学的サンプル液88が、サンプルコンテナ(図示せず)からヒートスパイク容器26Aに移送されている。この移送において、ロボットビベット装置は、ビベットチップ80の先端部84をヒートスパイク容器26Aの蓋46内の開口54を通して貫入させ、続いて、ビベットチップ80を、先端部84が容器の内部底面の真上に達するまで、容器26A内に降下させる。開口54の直径は、ビベットチップ80が前記位置に達したときに、開口54がビベットチップ80によって実質的に密閉又は閉塞されるように、選択される。従って、サンプル液88が導入された後、ビベットチップ80は(蓋46と共に)、事実上、容器26Aの栓或はシールとしての役割を果たす。ビベットチップ80は、ヒートスパイクが行われている間(その間、熱板56はサンプル液88の温度を略80℃に上昇させるように働かされる)、図6に示される位置に留められ、従って、この期間中のサンプルの蒸発損失を減らすか又はなくすることができる。容器26A内で形成されるどのようなサンプル液のエロゾルもビベットチップ80によって容器26Aから外部に逸散することが防がれ、従って、自動化処理装置によって処理されている他のサンプル液との互いの汚染を避けることができる。ヒートスパイク期間が終了すると、サンプル液はロボットビベット装置によってビベットチップ80内に吸い上げられ、次の汚染除去用サンプル容器26Bに移送される。このサンプルの移送に、新しいビベットチップを用いてもよい。

【0041】図7において、生物学的サンプル液88は、自動化ビベット装置によって汚染除去用容器26B内に移送されている。図6に基づいてすでに述べたように、ビベットチップ80の先端部84は容器26Bの蓋46の開口54を通して貫入させられ、容器26Bの内部底面にはほぼ接触しかかっている。この状態において、ビベットチップ80は汚染除去用容器26Bを大気から効果的に遮断している。サンプル液88は、ビベットチ

ップ80によって汚染除去容器26B内に導入されると、乾燥されたスポット状の汚染除去試薬58と混合されて同試薬を再水和する。熱板62は、サンプル液88を略41℃に上昇させるように働かされ、この温度は略50分の保温期間の間、保持される。この期間中、使い捨てビベットチップ80は、サンプル88の蒸発損失を最小化し汚染除去用容器26Bからのエロゾルの逸散を防止するために、図7に示される位置に保持される。汚染除去反応が完了すると、熱板64の作用は停止させられ、サンプル液88はビベットチップ80内に吸い上げられる。

【0042】図8において、サンプル液はビベットチップ80によって、汚染除去容器26Bから増幅容器26Cに移送されている。サンプル液88は、増幅容器26Cに導入されると、スポット状の乾燥された増幅試薬60と混合されて同試薬を再水和する。熱板64は、サンプル液を約42℃に上昇するように働かされ、この温度は略2時間の保温期間の間、保持される。この期間中、ビベットチップ80は、サンプルの蒸発損失を減少させ他のサンプルとの互いの汚染を防止するために、図8に示される位置にとどまることが許される。増幅反応は、サンプル液の温度を80℃に上昇させ、この温度を約5分間保つように熱板64を作用させることによって停止させられる。5分間のヒートスパイク(この間、ビベットチップ80は図示される位置に保持されている)の後、熱板64の作用が停止させられ、サンプル液88はビベットチップ80に吸い上げられる。増幅反応を終了させるヒートスパイクは、必要に応じて、増幅容器26Cよりも耐熱特性のすぐれた別のサンプル容器内で行うこともできる。

【0043】検出容器26D、26E、および26Fを含む、核酸アッセイの検出部が図9ないし図11に示されている。図9において、サンプル液88の全て又はその一部(この一部の液に、十分なサンプル体積を確保するために生理的食塩水又は他の不活性な液が添加される)が第1検出容器26Dに導入されている。なお、この第1検出容器26Dの内壁には乾燥された捕捉試薬が塗布されている。〔必要に応じて、このとき、「アリコート法」によって、サンプル88の一部(すなわちアリコート)をサンプル容器26Eおよび26Fに導入してもよい。あるいは、検出反応は互いに独立しているから、検出工程中にサンプル88の全体を1つのサンプル容器から次のサンプル容器に移送してもよい。〕適切な(液状の)捕捉プローブおよび検出プローブが、ビベットチップ80によって、外部の試薬コンテナからサンプル液88に添加される。なお、試薬コンテナの汚染を防止するために、各プローブが添加される前に、新しいビベットチップが必要とされる。捕捉プローブおよび検出プローブが添加された後、サンプル液の温度を約33℃に上昇させるように熱板66が働かされ、この温度は約

1時間の保温期間の間、維持される。この期間中、ピペットチップ80は、検出容器26Dを密封するため、図9に示される位置に保持される。この保温期間の後、熱板66の作用が停止させられ、サンプル液88はピペットチップ80によって検出容器26Dから取り出され、廃棄されるか（アリコート法の場合）又は次の検出容器26Eに移送される。次いで、検出容器26Dから残留しているサンプル及び試薬を除去するために、水洗工程が（ピペットチップ80又は別の水洗ヘッドによって）行われるとよい。このことによって、容器26Dの内壁に結合された反応材料のみが容器26D内に残される。この後、ピペットチップ80は、一定量の化学発光試薬を外部試薬コンテナから取り出し、検出容器26D内に導入する（典型的には、化学発光試薬の体積は、サンプル容器内に存在するアリコートの体積の約3倍である）。熱板66を作用させて、検出容器26D内の化学発光試薬を37℃で略30分間、保温する。この期間中に、化学発光試薬は、検出容器26Dの内壁と結合させられた、ハイブリッド形成された増幅材料と反応する。対象となる核酸配列が存在することを示すこの発光は、光ファイバー68を介して、図4に示される検出システム74によって検出される。化学発光のための保温の間、必要に応じて、ピペットチップ80は図9に示される位置に保留されるとよい。ただし、この工程では蒸発損失やサンプル液同士の汚染は重要な問題ではないので、ピペットチップ80による容器の密封は重要ではない。

【0044】本発明の好適な実施例において、検出容器26D内で行われる検出反応は、核酸増幅がサンプル液88内で生じたかどうかを示す内部増幅制御反応である。この検出反応の後に、検出容器26Eにおける「属（genus）」反応と、最後の検出容器26Fにおける「種（species）」反応が続く。これらの反応は、それぞれ、図10および図11に例示されている。属反応中および種反応中に行われる一連の操作は、異なった捕捉および検出プローブが用いられる点を除けば、図9に基づいてすでに説明された操作と同じである。

【0045】図6ないし図11に基づく前述の説明において、検出容器26D、26Eおよび26Fは、外部の試薬コンテナから供給される特定の捕捉および検出プローブを必要とする「包括的」なタイプのものとされていた。しかし、ロボットピペット装置によって行う液移送回数を可能な限り少なくするために、捕捉および検出プローブは、乾燥された捕捉試薬と共に、検出容器26D、26Eおよび26Fの内壁の被覆の一部として提供されてもよい。他の実施形態において、多くの対象物の捕捉および検出が、異なる対象物を個別に検出する別々のシステムを用いて、単一の容器内で同時に行われてもよい。

【0046】ピペットチップ80をサンプル容器26A

ないし26Fのそれぞれに導入する場合に、ロボットピペット装置は、使い捨てピペットチップ80の先端部84をサンプル容器に導入し、液が容器に投与される前にサンプル容器の底面の真上の所定の点で停止し、後続の保温すなわち反応期間の間その位置に保留してサンプル容器を密封する。しかし、これ以外のモードによる操作も可能である。例えば、最初、サンプル液がサンプル容器内に導入されている間は、ピペットチップ80の先端部84とサンプル容器の底との間にいくらか大きい間隙を持たせるとよい。このことによって、ピペットチップの先の開口がサンプル容器の底面で閉塞されるのを防ぎ、また、ピペットチップと開口54の周縁との間に生じるわずかの環状隙間によって、サンプル液が投与される間にサンプル容器から空気を効果的に逃がすことができる。サンプル液の投与が終了すると、ピペットチップ80の先端部84はサンプル容器の底面に近接する（又は接触する）点にまで降下させられてもよい。この位置において、ピペットチップの外面は開口54の周縁と近接し（又は接触し）、従って、後続の保温すなわち反応期間中、サンプル容器を有効に密封することができる。サンプル液がサンプル容器から引き出されるとき、サンプル液がピペットチップの開口内に自由に流入できるように、またサンプル容器26の通気を可能にするために、ピペットチップ80の先端部84をサンプル容器の底面からわずかに引き上げてよい。

【0047】図12は、サンプル容器26と共に用いられる蓋構造の変形例を例示している。図12の、相互に接続された蓋46'は、予め形成された開口54が用いられていない点を除けば、図2に基づいてすでに説明した蓋46と類似している。図12の例では、各蓋の上側中心部88がゴム又はプラスチック膜からなる薄い弾性膜又は隔膜の形態で設けられ、2つ以上の交差スリット90および92が互いに交差して完全に膜を貫通するようにして形成されている。ピペットチップ80が存在しないとき、スリット付き膜は中実の蓋（又は覆い）として機能するが、サンプル液を容器26内に導入するか又はその容器26から、すでに導入されたサンプル液を吸い上げるとき、ピペットチップ80の先端部84によって容易に貫通される。スリット付き膜88は、ピペットチップ80の外面との間で、場合によっては、図2に示される予め形成された開口54の場合よりもさらに効果的な密封性を得ることができる。

【0048】サンプル容器26に用いられる蓋構造のさらに他の変形例が図13に例示されている。この変形例において、個別的に形成された蓋46又は46'はアセタート、ゴム又はスチレンシート又はフィルムのような可撓性材料からなる実質的に平らな連続細長条94によって置き換えられている。この細長条94はサンプル容器26の上側開口42に接着材によって固着される。接着材は細長条94の下面に塗布するか、又はサンプル容

器26の上面に塗布されるとよい。刻み線96および98(図示されるように交差パターンが好ましい)が細長条94の上面に、ピペットチップ80の先端部84が細長条を貫通するのを助長するように、部分的に貫通するように形成されるとよい。細長条94の長さは、その細長条94が対応する細長条24のすべてのサンプル容器26を十分覆うように設定される。ただし、対応する細長条24が有する容器26の内、実際にはすべての容器が使用されないなら、細長条94は切断又は小さく分割されてもよい。

【0049】図14および図15は、サンプル容器26の底構成の2つの変形例を例示している。図14に示されるサンプル容器26'の底100は球状に丸められ、図15に示されるサンプル容器26''の側壁102は円錐形である。これらの変形例の各底構成は、(特に、試薬がサンプル容器の内壁に付着される場合に)サンプル容器内の有効面積をより大きくするという利点と、また、ピペットチップ80から投与されるサンプル液とサンプル容器内に備えられている試薬との混合をより促進するという利点がある。

【0050】図16は、サンプル容器26とホルダー22をエンドユーザに、そのユーザが手動又は自動化処理装置によって行われる(数種類のオプションから選択される)特殊な形式の核酸アッセイを設計できるようなセットとして、提供するための方法を例示している。この例において、セットは異なった種類の汚染除去容器24-1、24-2および24-3を有する3つの細長条を含んでいる。一例として、汚染除去容器の細長条24-1は、標準ウラシルDNAグリコシラーゼ(uracil DNA glycosylase, UDG)汚染除去反応用試薬を含み、汚染除去容器の細長条24-2は、耐熱性汚染除去反応用試薬を含み、汚染除去容器の細長条24-3は、化学的汚染除去反応用試薬を含む。これらの細長条の1つは、製造業者又はユーザによって対象となる特殊なアッセイ用に選択され、ホルダー22の汚染除去容器の細長条用の位置に配置される。同様に、増幅容器の2つの細長条24-4および24-5がセットに設けられる。第1細長条24-4の容器には結核菌からの対象DNA配列の増幅に適した試薬が備えられ、第2細長条24-5にはクラミジア菌のような他の細菌からの対象DNA配列の検出に適した試薬が備えられる。アッセイされる特定の病原菌に応じて、細長条24-4と24-5の1つがユーザによって選択され、ホルダー22の増幅細長条用の位置に配置される。さらに、セットは検出容器を有する6つの細長条24-6ないし24-11を備えている。これらの細長条の1つ以上がユーザによって選択され、ホルダー22の検出細長条用の位置に配置される。例示された例において、検出容器用細長条24-6、24-7および24-8は、結核菌からの対象DNA配列のための識別特性、属、および種を検出する試薬をそれぞれ

含む。残りの検出容器用細長条24-9、24-10および24-11もクラミジア菌、淋菌、あるいは他の病原菌を検出する同様の試薬を含む。

【0051】通常、本発明に用いられるサンプル液は、対象核酸[すなわち、リボ核酸(RNA)又はデオキシリボ核酸(DNA)]および汚染性アンプリコン(増幅生成物)を含む水性調合剤である。ここで、対象核酸およびアンプリコンのいずれか(又は両方)は単鎖形態である。例えば、対象核酸は、遺伝因子の完全な組を有する不規則に切断されたDNA片である。この調合剤は、公知の技術によって、核酸増幅手順に用いられるに適した形態とされる。

【0052】対象核酸配列を含むサンプル内の汚染性アンプリコン(増幅生成物)は、米国特許第5,035,996号又は公開された欧州特許出願第0415755A2号(いずれも本明細書で引用されている)によって教示される技術に含まれる適当な手段によって除去される。なお、これらの公開特許は、Life Technologies Inc.によって所有されるもので、増幅手順にデオキシウリジン(dUTP)が用いられる場合の汚染除去技術について記載している。そして、増幅のあと、他のサンプルを汚染する可能性のあるアンプリコンはウラシルグリコシラーゼ(UDG)を用いる酵素処理が施され、dUTPを含むアンプリコンを実質的に増幅不能とする。

【0053】選択された、すなわち、対象となる核酸配列の増幅は、任意の適当な手段によって行うことができる。一般的な増幅に関しては、D. Kwoh および T. Kwoh による "Am. Biotechnol. Lab. 8, 14-25 (1990)" を参照するとよい。適当な増幅技術としては、例えば(それらに限定されないが)、以下の技術が挙げられる。すなわち、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、リガーゼ鎖反応(LCR)、tSDAを含むDNA鎖置換増幅(SDA)、転写系増幅(D. Kwoh 等: Proc. natl. Acad. Sci. USA 86, 1173-1177 (1989) を参照)、自己持続配列レプリカ(3SR)(J. Guatelli 等: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1874-1878 (1990) を参照)、Q β レプリカーゼ法(P. Lizardi 等: Bio Technology 6, 1197-1202 (1988) を参照)、核酸配列系増幅(NASBA)(R. Lewis: Genetic Engineering News 12(9), 1 (1992) を参照)、修復鎖反応(RCR)(R. Lewisによる上記の文献を参照)、およびブーメランDNA増幅(BDA)(R. Lewisによる上記の文献を参照)などの増幅技術である。特に、好熱性DNA鎖置換増幅(tSDA)を含むDNA鎖置換増幅(SDA)が好ましい。

【0054】DNA鎖置換増幅(SDA)又はtSDAは、公知の技術に準じて行うことができる。一般的な技術として、G. Walker 等: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 392-396 (1992)、G. Walker 等: Nucleic Acids Res. 20, 1691-1696 (1992)、および、米国特許第5,455,166号、第5,270,184号、および第

5, 422, 252号を参照するとよい。なお、これらの文献は引用によりすべて本明細書の一部とされている。

【0055】以上、本発明の実施例を具体的に説明したが、それらは単なる例示にすぎず、本発明をなんら限定するものではなく、当業者にとっては、本発明の装置と方法に基づく種々の変形例が可能であることは自明のことであろう。例えば、本発明の範囲内において、蓋46をサンプル容器26と一体に形成したり、又は、蓋46の開口54を使い捨てピペットチップ以外の装置又は構造物によって密閉することも可能である。さらに、本発明の範囲内において、さらに蒸発損失およびサンプル同士の汚染を減少させる目的で、1つのサンプル容器26内で反応が生じている間にサンプル液88のすべて又はその一部をピペットチップに吸い上げることも可能である。また、本発明は主に核酸アッセイに関して記載されたが、サンプル液に対して行われる免疫検定および他の生物学的・化学的プロセスにも適用される。従って、本発明は請求の範囲によって限定され、請求の範囲の均等物及び均等方法を含むものである。

【0056】

【発明の効果】以上のように、本発明のサンプル容器によれば、反応が生じている間、ピペットチップが効果的にサンプル容器を密閉しているため、サンプルの蒸発による損失を減少させ、また、隣接するサンプル容器に含まれるサンプルとのかの間の互いの汚染を避けることができる。また、本発明の核酸アッセイを行うための装置セットによれば、ユーザは特定の核酸アッセイに必要な特定のサンプル容器を選択し、選択されたサンプル容器をホルダーを用いて必要な順序に組み立て、そのホルダーを自動化処理装置に搭載して所定のアッセイを行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の好適な実施例に基づいて構成された、自動化処理装置に好適に用いられるように細長条として互いに接続されかつホルダーで保持されている蓋付きサンプル容器の配置を示す斜視図である。

【図2】ホルダーから取り外された互いに接続されたサンプル容器の1つの細長条とその細長条のサンプル容器から取り外された蓋を示す、図1と同様の斜視図である。

【図3】すべてのサンプル容器を取り外して空のホルダ

一の構成を示す、図1および図2と同様の斜視図である。

【図4】サンプル容器の内部の詳細と、サンプル容器及びホルダーと共に用いられる自動化処理装置の或る特徴を示す、図1の線4-4に沿った断面図である。

【図5】サンプル容器内のサンプル液を加熱するために用いられる熱板の構成を示す、サンプル容器が搭載された自動化処理装置の一部の上面図である。

【図6】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図7】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図8】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図9】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図10】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図11】本発明のサンプル容器を用いて行う核酸アッセイの方法を例示する逐次工程図である。

【図12】蓋構造の異なる、本発明によるサンプル容器の変形例を例示する図である。

【図13】蓋構造の異なる、本発明によるサンプル容器の変形例を例示する図である。

【図14】底形状の異なる、本発明によるサンプル容器の変形例を例示する図である。

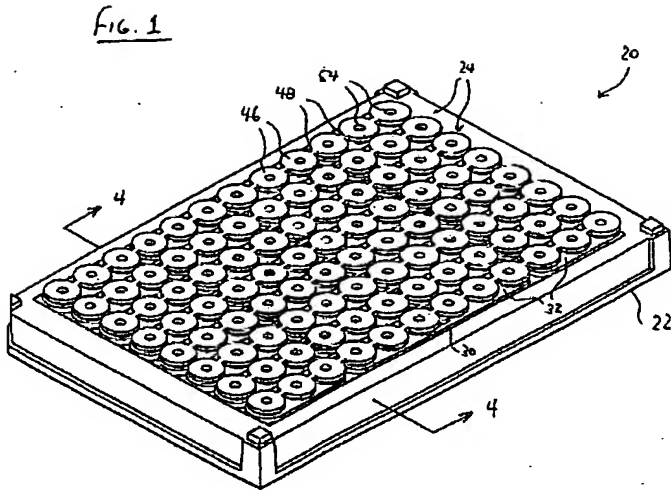
【図15】底形状の異なる、本発明によるサンプル容器の変形例を例示する図である。

【図16】本発明のサンプル容器を、ユーザが一つの自動化処理装置においてサンプル液に対して特定のプロセスを選択できるセットとして提供する方法を例示する図である。

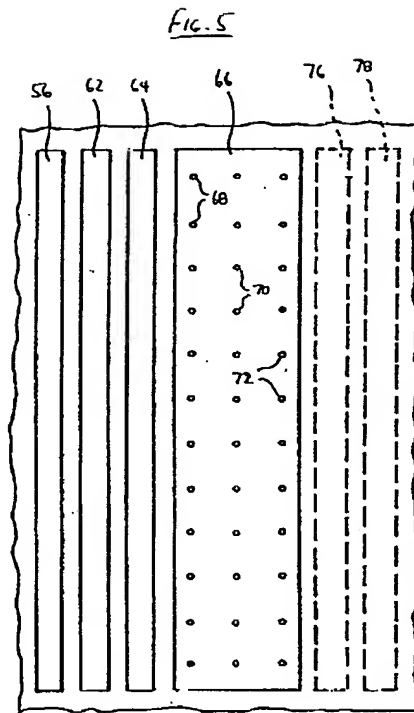
【符号の説明】

- 20 サンプル容器組立
- 22 ホルダー
- 24 サンプル容器の細長条
- 26 サンプル容器
- 28 サンプル容器のグループ
- 42 サンプル容器の上側開口
- 44 蓋の細長条
- 46 蓋
- 54 蓋の開口

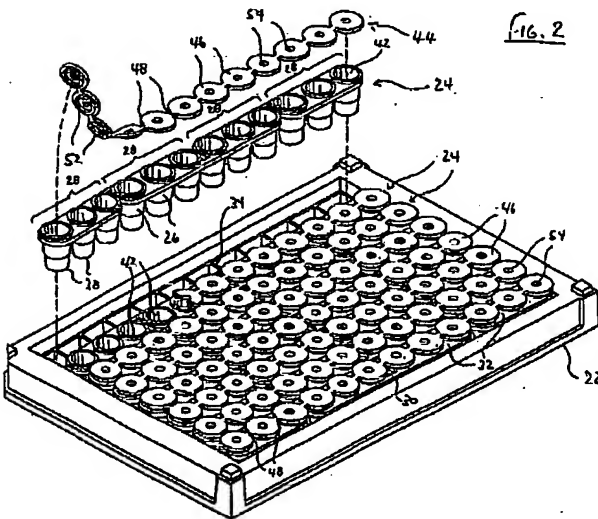
【図1】



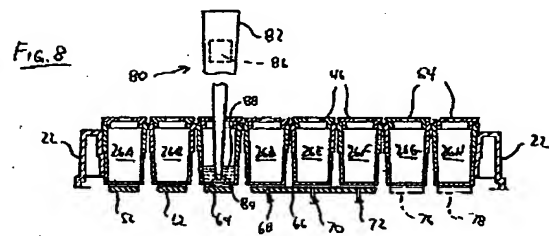
【図5】



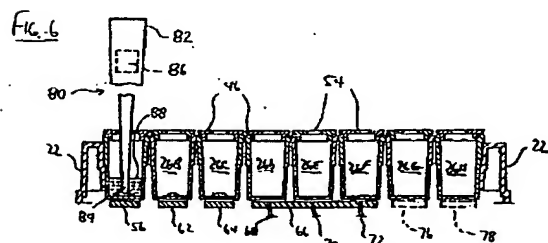
【図2】



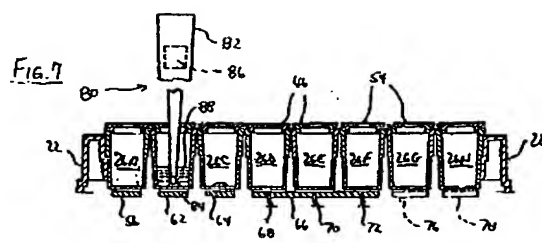
【図8】



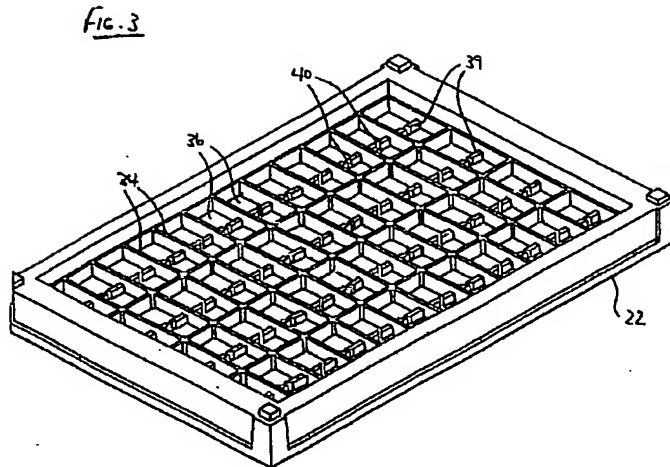
【図6】



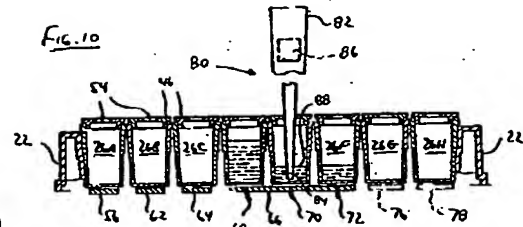
【図7】



【図3】

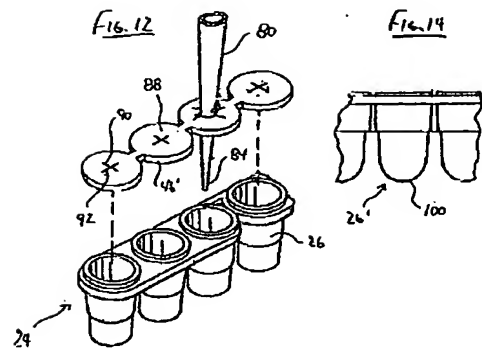


【図10】

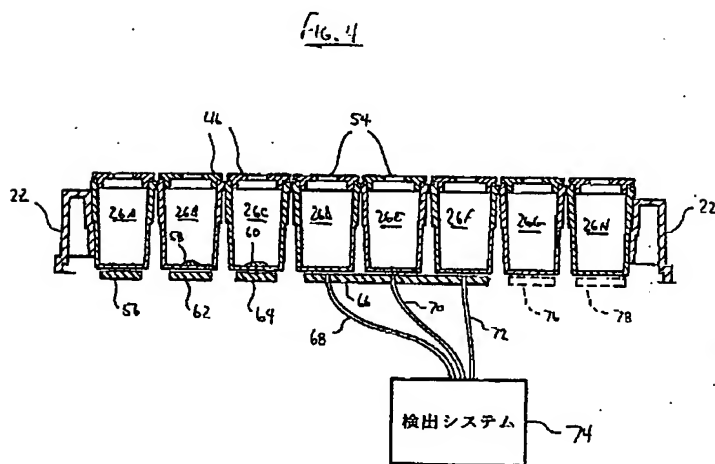


【図12】

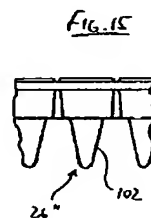
【図14】



【図4】

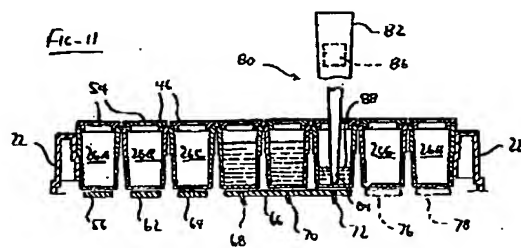
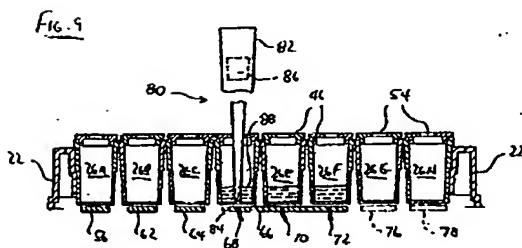


【図15】

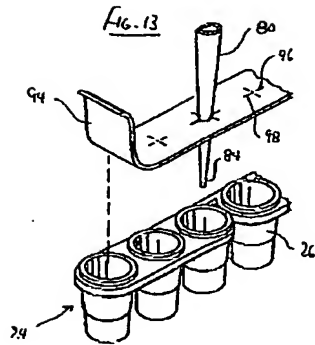


【図9】

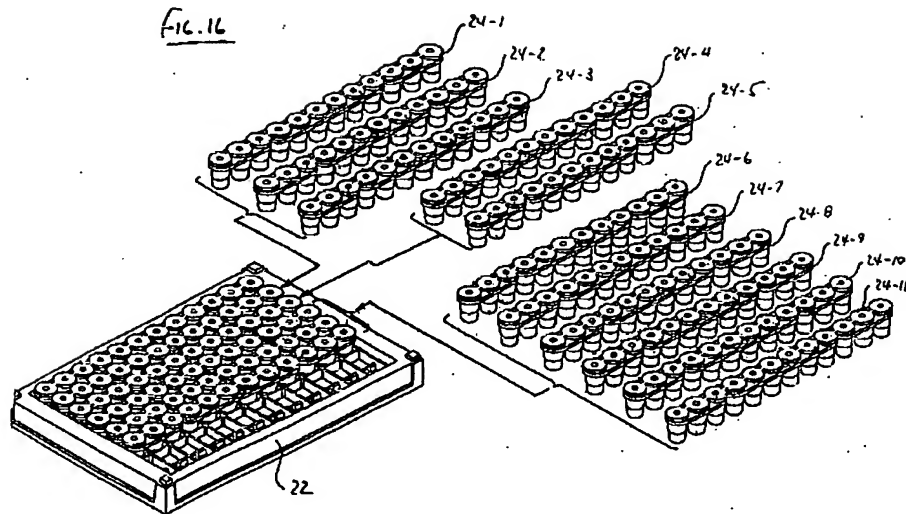
【図11】



【図13】



【図16】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁶

G 0 1 N 33/50
33/53

識別記号

F I

G 0 1 N 33/50
33/53

P
T